AMEA-nın Xəbərləri (biologiya və tibb elmləri), cild 67, №2, səh. 34-37 (2012)

Антивирусное и Антигрибковое Действие Антибиотика Инфанвир При Заражении Овощных Культур

В.Х. Ибрагимова, А.А. Самедова, Г.Г. Султанова, Х.М. Касумов
Институт ботаники НАНА, Патамдарское шоссе 40, Баку AZ1073, Азербайджан,
E-mail: khalil.gasimov@gmail.com

Данная работа посвящена изучению действия антибиотика инфанвир на вирусные и грибковые инфекции овощных культур. Исследования показали, что инфанвир, созданный на базе ароматических гептаеновых, полиеновых антибиотиков, является эффективным средством борьбы с вирусными и грибковыми заболеваниями растений. Характерной особенностью инфанвира является его способность эффективно подавлять размножение вируса табачной мозаики (Tobacco mosaic virus). Инфицированные растения после обработки препаратом инфанвир не только излечиваются, но и происходит их полная регенерация.

Ключевые слова: *бислойные липидные мембраны, антибиотик инфанвир, овощные культуры, вирусные и грибковые заболевания*

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время интенсивно ведется поиск биологически активных соединений эффективно подавляющих растительные инфекции. Защита растений от патогенов является экономически значимой проблемой и важным направлением научных исследований (Гусейнова и др., 2012). За последнее десятилетие среди обнаруженных новых инфекционных болезней растений почти половина имеет вирусную природу (Гусейнова и др., 2012). Отдельные виды вирусов стали серьезной угрозой для овощей, зерновых культур и всего сельского хозяйства. В Азербайджане большинство вегетативно размножаемых культур хронически заражены вирусами, которые вызывают ощутимые потери урожая и заметно ухудшают качество сельскохозяйственной продукции (Гусейнова и др., 2012). По оценкам различных исследований потери урожая многих овощей от вирусных болезней могут достигать 10-88% (Гусейнова и др., 2012). Негативное воздействие вирусов на различные растения было выявлено более ста лет тому назад. Все виды растений, как однолетние, так и многолетние заражаются вирусами, что приводит к большим потерям (Гусейнова и др., 2012). Например, сельскохозяйственная статистика показывает, что ежегодные потери урожая сахарной свеклы (до 14,5%) и помидоров (до 16,0%) вызваны вирусной и грибковой инфекцией (Patent US 3996347, 1976). Хотя потери и впечатляют, однако по-настоящему эффективных мер борьбы с вирусными и грибковыми инфекциями растений до сих пор еще не найдены.

Объектом данного исследования является поиск веществ, способных избирательно воздействовать на растительные инфекции.

Антибиотики обладают всеми свойствами, которые необходимы для лечебных препаратов, применяющихся в растениеводстве (Weller, 1988). В литературе имеются многочисленные сообщения об успешном использовании антибиотиков в борьбе с различными заболеваниями растений (Быченко, 1974). При этом показано, что антибиотики не только предохраняют растения от поражений, но и оказывают лечебное действие при наличии инфекций (фитопатогенные грибы и вирусы). Антибиотические препараты испытаны при лечении заболеваний фруктовых деревьев, хлопчатника, зерновых и овощных культур, декоративных растений, как в лабораторных, так и в производственных условиях. Особенно широкое распространение в растениеводстве антибиотики получили после того, как стали очевидными неблагоприятные последствия использования ядохимикатов, которые наряду с подавлением фитопатогенной микрофлоры отравляют полезные виды птиц и животных, питающихся опыленными растениями. Антибиотики обладают рядом ценных преимуществ в борьбе с фитопатогенными микроорганизмами по сравнению с другими веществами.

Антибиотики обладают избирательностью действия и, подавляя развитие фитопатогенных бактерий и грибов, практически безвредны для растений и животных. Многочисленные экспериментальные исследования показали, что большинство используемых антибиотиков хорошо проникают в ткани растений через корни, стебли, листовую поверхность, впитываются в семена. Скорость проникновения в растение определяет-

ся свойствами антибиотика. Проникнув в растение, антибиотик распространяется в его тканях в концентрации, убывающей при удалении от места введения. Концентрация антибиотика в тканях растений зависит от свойств антибиотика, вида растений и от внешних условий. Таким образом, быстрое проникновение антибиотиков в растение и распространение в его тканях при сравнительно медленной инактивации биологической активности позволяет создавать определенное насыщение антибиотиком, необходимое для подавления фитопатогенной микрофлоры. Биологическая активность антибиотиков проявляется в тканях растений значительно сильнее, чем в тканях животных. При выборе антибиотика необходимым условием является отсутствие токсичности. Антибиотики, используемые в лечебных дозах, нетоксичны для растений. Выбор полиеновых антибиотиков (ПА) в качестве объекта исследования был неслучаен, т.к. позволяет вести исследования на молекулярном уровне. Проведенные исследования в данном направлении позволили выявить из группы ароматических ПА новое соединение инфанвир, которое обладает способностью эффективно и избирательно подавлять вирусные и грибковые инфекции.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Инфанвир представляет собой аморфный порошок желтого цвета без четкой температуры плавления. Он хорошо растворяется в диметилсульфоксиде (ДМСО), диметилформамиде и пиридине, слабо растворяется в низших спиртах. Растворимость в спиртах увеличивается в присутствии 20-30% воды. Не растворяется в хлороформе, безводном ацетоне, диэтиловом и петролейном эфирах. Инфанвир обладает амфотерными свойствами, ионизируясь, он образует в кислой среде катион, а в щелочной – анион. По химической природе инфанвир относится к гептаеновым ПА. В комплексе с ДМСО он представляет собой жидкость темно-желтого цвета, горьковатого вкуса, со специфическим запахом. Инфанвир является одним из компонентов сложной антибиотической смеси леворина (Ibragimova, 2010). В составе лекарственного средства инфанвир содержатся два компонента неидентичных по своей химической структуре и по физико-химическим свойствам (состав лекарственного средства не приводится из-за патентных соображений). При осуществлении способа приготовления антибиотического лекарственного средства, необходимо сначала преобразовать антибиотическое вещество из порошкообразной формы (кристаллической) в молекулярную форму. При этом достигается перевод антибиотического вещества в наиболее эффективную форму, способную впоследствии активно смешиваться с любыми другими веществами. Лекарственное средство инфанвир получается растворением 1 г. порошка активного компонента с биологической активностью 25 000 ЕД/мг в I00 мл ДМСО. После тщательного перемешивания композиция выдерживается в течение суток при комнатной температуре. Затем жидкость фильтруется и хранится в темном, прохладном месте. В результате получается маточный раствор инфанвира готовый к использованию. Указанная концентрация инфанвира пороговая, так как выше этой концентрации активный компонент при разбавлении водой выпадает в осадок. Применение препарата при таком соотношении компонентов является высокоэффективным. 1 л. маточного раствора инфанвира разбавляется в 100-200 литрах воды и этим раствором опрыскивается зараженная поверхность овощных культур и обрабатывается их корневая система.

Биологическая активность инфанвира определялась методом бислойных липидных мембран (БЛМ) (Ибрагимова и др., 2006 а). БЛМ получали из фосфолипидов, выделенных из белого вещества бычьего мозга путем нанесения капли фосфолипидов на отверстие в тефлоновой ячейке. Общие фосфолипиды очищали от нейтральных липидов ацетоновой промывкой и хранили при $0^{o}C$ при концентрации 20 мг/мл в хлороформ-метанольном растворе в объемном соотношении (2:1). Изучалась интегральная проводимость мембран в зависимости от концентрации антибиотика в режиме фиксации потенциала (Ibragimova et al., 2006). При определенной концентрации антибиотика достигается максимальная проводимость мембран, которая берется в качестве основной составляющей при приготовлении лекарственного средства.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Инфанвир относится к классу мембраноактивных гептаеновых макролидных антибиотиков (Ибрагимова и др., 2006 б). В основе механизма действия этого соединения лежит связывание с цитоплазматическими мембранами клеток и образование в них ионных каналов (Ибрагимова, 2010). До настоящего времени не найдено эффективного соединения, которое обладало бы способностью полностью подавлять развитие инфекций у растений. С этой точки зрения актуальность проводимых исследований не вызывает сомнений. ПА, продуцируются ак-

тиномицетами. Биологическое действие ПА связано с изменением проницаемости липидных и клеточных мембран для ионов и органических соединений (Ibragimova et al., 2006). Для определения биологической активности антибиотика была изучена зависимость проводимости мембран от концентрации инфанвира (рис. 1). Как видно из рис. 1 максимальная активность антибиотика наблюдается при концентрации 10^{-6}-10^{-5} М.

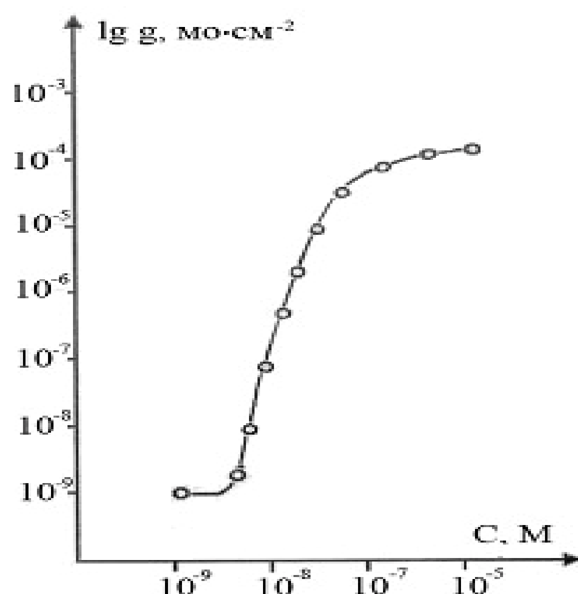


Рис. 1. Зависимость проводимости липидных мембран от концентрации инфанвира. Мембраны формировались из смеси фосфолипид:холестерин 20:1 в водных солевых растворах, содержащих 10^{-1} М KCl при pH 6.5, t=22^{0}C. Потенциал на мембране 100 мВ (+ со стороны антибиотика).

Исходя из этих данных, рассчитана действующая концентрация антибиотика, которая соответствует максимальной его биологической активности. При малой 10^{-8} М концентрации инфанвира на мембранах образуются одиночные ионные каналы с низкой проводимостью, величина которой составляет 0,3-0,5 пСм. Исследования показали, что инфанвир, формирующий молекулярный комплекс при взаимодействии с цитоплазматическими мембранами, способствует подавлению вирусных и грибковых инфекций овощных и других видов сельскохозяйственных культур. Биологическая активность ПА резко возрастает при растворении в ДМСО (Yu, Quinn, 1994; Ibragimova et al., 2002). Полиены в растворе ДМСО примерно в 10 раз эффективнее по сравнению с исходными водорастворимыми формами антибиотиков. Инфанвир содержит в своем составе ДМСО и активный компонент, что позволяет использовать его при лечении вирусных и грибковых заболеваний овощных культур. Предполагается, что инфанвир обладает способностью взаимодействовать с оболочками вирусных частиц и мембранами клеток грибов. В результате такого взаимодействия происходит лизис клеток. Введение ДМСО обеспечивает лучшее растворение активного компонента и способствует быстрому проникновению антибиотика в инфицированные вирусом и грибком клетки растений. Антивирусный и противогрибковый эффект препарата проявляется за счет связывания антибиотика с мембранами с последующим формированием в них комплексов, которые представляют собой канальное образование молекулярных размеров. Предполагается, что действие инфанвира связано с ингибирующим влиянием препарата на репродукцию вирусов и грибковых клеток. Лекарственное средство может быть использовано в промышленном масштабе, т.к. все компоненты, входящие в состав средства, допущены к использованию в медицинской и ветеринарной практике для лечения соответствующих заболеваний (Lewis, Papavizas, 1987; Sukapure et al., 1984). Предложенное средство не токсично, безвредно, что позволяет использовать препарат при выращивании овощных и других сельскохозяйственных культур. Действие его достаточно эффективно. Для достижения необходимого результата требуется меньшее количество средства по сравнению с другими препаратами. Вышеуказанные преимущества в сочетании с простой схемой получения, исключающей загрязнение окружающей среды, способствуют рациональному использованию лечебного средства в сельском хозяйстве. Инфанвир в комплексе с ДМСО, оказывает эффективное воздействие на вирусные и грибковые болезни овощных культур. Это было показано при проведении экспериментов в тепличных помещениях, а также в открытых грунтах нескольких фирм: «AGRI BIO ECOTEH», «REAL PLUS», «РЕАЛ ПЛЮС МП», «МП АГРО», расположенных на Апшеронском полуострове в поселке Мардакан. На опытных участках указанных фирм выращиваются огурцы, помидоры, баклажаны и перец. Проведенные исследования показали высокую эффективность действия препарата на патогенные микроорганизмы. Обработка растений, а также почвы, пораженных вирусной и грибковой инфекцией, путем опрыскивания зараженных участков раствором инфанвир из расчета 100 мл исходного раствора растворенного в 10 литрах воды при 15-35^o С приводит к уничтожению вирусных и грибковых инфекций. Следует отметить, что препарат инфанвир обладает способностью полностью подавлять рост вируса табачной мозаики (*Tobacco mosaic virus*). Необходимо отметить также, что инфицированные

растения после обработки препаратом инфанвир не только излечиваются, но и происходит регенерация увядших от инфекции растений. Более того, обработанные препаратом растения имели примерно в 1,5 раза больше урожая, чем экспериментальные. Антибиотик инфанвир может быть использован как в тепличных условиях, так и в открытых грунтах против возбудителей растительных инфекций.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Гусейнова И.М., Султанова Н.Ф., Маммадов А.Ч., Алиев Д.А. Вирусные заболевания, поражающие овощные культуры в Азербайджане. Баку: Елм, 2012, с. 1-118.

Быченко Е К (1974). Эффективность некоторых антибиотиков в борьбе с болезнями овощных культур в условиях закрытого грунта. Микология и фитопатология, **8:** 419-420.

Ибрагимова В.Х., Алиева И.Н., Касумов.Х.М. (2006а). Физико-химические свойства и биологическая роль диметилсульфоксида в комплексе с полиеновыми антибиотиками - Известия НАН Азербайджана (серия биологических наук), **№1-2:** 130-151.

Ибрагимова В.Х., Алиева И.Н., Касумов Х.М.. (2006 б). Эффект макролидного гептаенового антибиотика леворина A_2, вводимого с одной стороны мембраны. Биологические мембраны. **23(6):** 493-502.

Ибрагимова В.Х. (2010). Оценка влияния препарата «Инфанвир» на ряд инфекционных заболеваний овощных культур. Ж. «Успехи современного естествознания», **№12**: 50.

Ibragimova V.Kh., Aliev D.I., Alieva I.N. (2002). Biophysical and medicobiological aspects of application of polyene antibiotics in combination with dimethyl sulfoxide. Biophysics, **47(5):** 774-781.

Ibragimova V., Alieva I., Kasumov Kh., Khutorsky V. (2006). Transient permeability induced by alkyl derivatives of amphotericin B in lipid membranes. Biochim. Biophys. Acta, **1758:** 29-37.

Ibragimova V.Kh. (2010). The effect of membrane active channel-forminq INFANVIR preparation on pathogenic infections of vegetable plants - Das internationale symposium Ekologishe technologishe und rechtliche aspekte der lebensversorgung .Ganover, 43.

Lewis J., Papavizas J. (1987). Biological control of plant diseases. Soil Biology. Biochem., **191(2):** 114.

Patent US 3996347. (1976). Plant virus treatment. Breslow David Samuel, Chadwick Arthur A.

Sukapure R.S., Rahalkar P.W., Gharpure J.H. (1984). Aureofungin in plant diseases. Antimicrobials arid agriculture. London, 137-148.

Weller D.M. (1988). Biocontrol of plant diseases. Ann. Rev. Phytopathol. Palo Alto, Calif., **26:**. 247-261.

Yu Z., Quinn P. (1994). Dimethyl sulphoxide: a review of its applications in cell biology. Bioscience Reports, **14:** 259-281.

V.X. Ibrahimova, A.A Səmədova, G.H. Sultanova, X.M. Qasımov

İnfanvir Antibiotikin Tərəvəz Bitkilərin Virus və Göbələk Xəstəliklərinə Qarşı Təsiri

Təqdim olunan məqalədə tərəvəz bitkilərində yaranan virus və göbələk infeksiyalarına qarşı infanvir preparatın təsiri tədqiq olunur. Polien aromatik heptaen antibiotiklərin əsasında hazırlanan infanvir preparatı tərəvəz bitkilərində yaranan xəstəliklərə effektiv təsir göstərir. İnfanvir dərman preparatı virus və göbələk infeksiyalarının inkişafını dayandırır və bitkilərin regenerasiyasına səbəb olur. Alınan nəticələr göstərir ki, infanvir preparatı bitki infeksiyalarына qarşı, o cemlədən tütün mozaikası virusuna (*Tobacco mosaic virus*) qarşı istifadə oluna bilər.

V.Kh. Ibragimova, A.A. Samedova, G.G. Sultanova, Kh.M. Kasumov

The action of Infanvir Antibiotic on the Virogical and Fungous infections of Vegetable Plants

This article describe in detail membrane-active infanvir preparation which to be able action on the plant infections. This preparation was created on the base of some polyene antibiotics. Scientific researches showed that infanvir may be used against virogical and fungous infections in different plants. This preparation stops infection development and restores of physiological function infected plants in total. So infanvir may be used at different vegetable infections, especially against *Tobacco mosaic virus*.